



TITLE:

Integration Capacity of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilage(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Chen, Xike

CITATION:

Chen, Xike. Integration Capacity of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilage. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21657>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	陳 哲可
論文題目	Integration Capacity of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilage. (ヒト iPS 細胞由来軟骨の癒合能の検討)		
(論文内容の要旨)			
<p>Articular cartilage covers the ends of bones and provides lubrication between opposing bones during joint motion. It consists of chondrocytes and cartilage extracellular matrix (ECM).It has been well established that articular cartilage has a limited capacityfor self-repair. Therefore, researchers are developing cell / tissue sources for transplants in the regenerative treatment of articular cartilage damage.</p> <p>We have established protocols for the generation of stable cartilage from human induced pluripotent stem cells (hiPSC-derived cartilage, or hiPS-Cart) in vitro. When hiPS-Cart were transplanted into the defective articular cartilage of mini-pigs or rats, they constituted articular cartilage and showed indications of integration with native articular cartilage at the sides and bone at the bottom 4 weeks after transplantation. When transplanted to fill an articular cartilage defect, multiple hiPS-Cart formed cartilage tissue by integrating with each other and with the adjacent host cartilage tissue. These findings collectively suggest that hiPS-Cart can be a new source for transplantation to treat articular cartilage defects.</p> <p>The process of the hiPSC integration is important for healing, but is not well understood. In this study, we analyzed the integration of hiPS-Cart with each other using an in vitro model. hiPS-Cart consists of cartilage at its center and a perichondrium-like membrane that wraps the cartilage. We put two hiPS-Cart into one well of a round-bottom 96-well plate and found that they began to bond after 7 days. A portion of the perichondrium-like membrane at the integrated site was thickened thereafter, suggesting that the cells in the perichondrium-like membrane had proliferated. On day 14, we found portions of the cartilage of the two hiPS-Cart were in contact. Finally, integration of the cartilage was observed within 4-8 weeks.</p> <p>To identify molecules that regulate the integration, we extracted RNA from the perichondrium-like membrane and the central cartilage separately and performed RNA sequencing analysis. Among differentially expressed genes, we found FGF18 mRNA was expressed more in the perichondrium-like membrane than in the central cartilage. Real-time RT-PCR expression analysis verified this finding.</p> <p>Next, we added FGF18 or an FGFR inhibitor to the in vitro model. Histological analysis revealed that more pairs of hiPS-Cart cultured in the presence of FGF18 showed connections through the perichondrium-like membrane than that in the absence of FGF18. Conversely, the FGFR inhibitor lowered the number of integrated pairs.</p> <p>These results suggest that FGF18 secreted from the perichondrium-like membrane plays a role in the integration of hiPS-Cart, providing new insight into the mechanism of the integration. We expect these findings to contribute to understanding the healing process of transplants and to the realization of regenerative treatment for articular cartilage damage with hiPS-Cart.</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>関節軟骨は修復能に乏しいため損傷を受けると自然に治癒することはほとんどなく、関節運動が障害されて ADL が低下する。限局した関節軟骨損傷に対して骨軟骨柱移植術や自家軟骨細胞移植術が行われているが、それぞれドナーサイトの健常軟骨を犠牲にする、修復組織に線維軟骨を含むなどの課題がある。そこで申請者らはヒト iPS 細胞から分化誘導して作製した軟骨を損傷部に移植する方法を開発することを目指している。</p> <p>移植後に iPS 細胞由来軟骨はそれ同士、およびホストの軟骨と融合して修復組織を構成する。その結果、損傷部は健常な硝子軟骨で治癒することが期待できる。そこで本研究ではヒト iPS 細胞由来軟骨が融合する in vitro モデルを確立し、融合の過程を検討した。iPS 細胞は中心部の軟骨と周辺の周膜で構成され、接触後 1 週において周膜で融合が始まった。そして 4－8 週後に中心部の軟骨が融合した。次いで網羅的遺伝子発現解析により、周膜に高発現している遺伝子の一つとして FGF18 を同定した。このモデルに FGF18 を投与したところ、周膜の融合が促進した。一方、FGFR 阻害剤を投与した場合は、2 週においても融合が見られなかった。以上の結果から周膜を起源とする FGF シグナルは、iPS 細胞由来軟骨が融合する初期過程を促進していると考えた。</p> <p>本研究の成果は、iPS 細胞由来軟骨を用いた再生治療の治癒メカニズムの一端を解明するものであり、関節軟骨損傷に対する新たな治療方法の開発に貢献すると考える。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 2 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降